

Bunky RKO-E6 | 305135**Všeobecné informácie**

Description Bunky RKO-E6 sú bunkovou líniou ľudského kolorektálneho karcinómu odvodenou z bunkovej línie RKO dodatočnou mutagenézou. Tieto bunky sa bežne používajú vo výskume rakoviny, najmä so zameraním na kolorektálny karcinóm. Variant E6 línie RKO ponúka odlišný profil, ktorý je užitočný na skúmanie účinkov špecifických genetických manipulácií a štúdium molekulárnych mechanizmov tumorigenézy a metastázovania pri kolorektálnom karcinóme. Bunky RKO-E6 sa vyznačujú niekoľkými jedinečnými vlastnosťami vrátane zmien v génoch súvisiacich s reguláciou bunkového cyklu, apoptózou a dráhami opravy DNA. Tieto modifikácie zvyšujú využiteľnosť bunkovej línie na skúmanie biologických účinkov utlmenia alebo nadmernej expzie génov v kontexte kolorektálneho karcinómu. Bunky RKO-E6 sa napríklad využívajú na štúdium vplyvu nádorových supresorových génov a onkogénov na správanie rakovinových buniek vrátane proliferácie, invázie a rezistencie na chemoterapeutiká. Bunky RKO-E6 sú okrem toho užitočné v štúdiách zameraných na pochopenie bunkových reakcií na environmentálne stresory, ako je oxidačný stres a látky poškadzujúce DNA, ktoré sú relevantné pre patogenézu a progresiu kolorektálneho karcinómu. Ich robustné rastové charakteristiky a genetická stabilita z nich robia cenný model pre vysoko výkonné skríningové testy na hodnotenie účinnosti nových protinádorových zlúčenín. Celkovo možno povedať, že bunky RKO-E6 predstavujú dôležitý model na rozšírenie našich poznatkov o biológii kolorektálneho karcinómu a na vývoj a testovanie nových terapeutických stratégií zameraných na toto rozšírené a často smrteľné ochorenie.

Organism Ľudské

Tissue Colon

Disease Karcinóm hrubého čreva

Synonyms RKOE6

Charakteristika

Morphology Epitelové

Growth properties Adherent

Regulačné údaje

Citation RKO-E6 (katalógové číslo Cytion 305135)

Biosafety level 2

NCBI_TaxID 9606

CellosaurusAccession CVCL_3787

Bunky RKO-E6 | 305135**GMO Status**

GMO-S1: Táto línia ľudských buniek kolorektálneho karcinómu (RKO-E6) obsahuje plazmid kódujúci HPV-16 E6 pod kontrolou promótoru CMV, prípadne vrátane sekvencií CMV a HPV-6, čo umožňuje štúdie transformácie závislej od E6. Konštrukt je stabilne integrovaný. Táto klasifikácia platí len v Nemecku a môže sa líšiť v iných krajinách.

Biomolekulárne údaje**Spracovanie****Culture Medium**

EMEM (MEM Eagle), w: 2 mM L-Glutamín, w: 2,2 g/L NaHCO₃, w: EBSS (Cytion číslo článku 820100a)

Supplements

Doplňte médium o 10% FBS a 1% NEAA

Dissociation Reagent

Accutase

Subculturing

Odstráňte staré médium z adherovaných buniek a premyte ich PBS, ktorý neobsahuje vápnik a horčík. Pre banky T25 použite 3 - 5 ml PBS a pre banky T75 použite 5 - 10 ml. Potom bunky úplne pokryte Accutase, pričom použite 1 - 2 ml pre banky T25 a 2,5 ml pre banky T75. Nechajte bunky inkubovať pri izbovej teplote 8-10 minút, aby sa oddelili. Po inkubácii jemne premiešajte bunky s 10 ml média, aby boli znovu suspendované, a potom ich 3 minúty odstredíte pri 300xg. Supernatant zlikvidujte, bunky znovu rozmiešajte v čerstvom médiu a preneste ich do nových fliaš, ktoré už obsahujú čerstvé médium.

Split ratio

1:2 až 1:4

Fluid renewal

2 až 3-krát týždenne

Freeze medium

Ako kryokonzervačné médium používame kompletne rastové médium (vrátane FBS) + 10 % DMSO na zabezpečenie primeranej životaschopnosti po rozmrazení alebo CM-1 (katalógové číslo 800100 spoločnosti Cytion), ktoré obsahuje optimalizované osmoprotektanty a metabolické stabilizátory na zlepšenie obnovy a zníženie stresu spôsobeného kryom.

Bunky RKO-E6 | 305135

Thawing and Culturing Cells

1. Overte si, že injekčná liekovka zostane pri doručení hlboko zmrazená, pretože bunky sa prepravujú na suchom ľade, aby sa počas prepravy udržala optimálna teplota.
2. Po prijatí buď okamžite uskladnite kryovialku pri teplote nižšej ako -150 °C, aby ste zabezpečili zachovanie bunkovej integrity, alebo prejdite na krok 3, ak je potrebná okamžitá kultivácia.
3. V prípade okamžitej kultivácie injekčnú liekovku rýchlo rozmrazte ponorením do vodného kúpeľa s teplotou 37 °C s čistou vodou a antimikrobiálnym prostriedkom, pričom ju jemne miešajte 40 - 60 sekúnd, kým nezostane malý ľadový chumáč.
4. Všetky ďalšie kroky vykonajte v sterilných podmienkach v prietokovom digestore a pred otvorením kryovialku dezinfikujte 70 % etanolom.
5. Opatrne otvorte dezinfikovanú fľaštičku a preneste bunkovú suspenziu do 15 ml centrifugačnej skúmavky obsahujúcej 8 ml kultivačného média s izbovou teplotou a jemne premiešajte.
6. Zmes odstreďujte pri 300 x g počas 3 minút, aby sa bunky oddelili, a opatrne zlikvidujte supernatant obsahujúci zvyšky zmrazovacieho média.
7. Pelet buniek jemne resuspendujte v 10 ml čerstvého kultivačného média. V prípade adherentných buniek rozdeľte suspenziu medzi dve kultivačné banky T25; v prípade suspenzných kultúr preneste všetko médium do jednej banky T25, aby ste podporili účinnú interakciu a rast buniek.
8. Dodržiavajte zavedené subkultivačné protokoly na nepretržitý rast a udržiavanie bunkovej línie, čím sa zabezpečia spoľahlivé výsledky experimentov.

Incubation Atmosphere

37 °C, 5 % CO_2 , zvlhčená atmosféra.

Flask Coating

Žiadne

Freezing Procedure

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Shipping Conditions

Kryokonzervované bunkové línie sa prepravujú na suchom ľade v overených, izolovaných obaloch s dostatočným množstvom chladiva na udržanie teploty približne -78 °C počas celej prepravy. Po prijatí ihneď skontrolujte obal a bezodkladne premiestnite injekčné liekovky do vhodného skladu.

Bunky RKO-E6 | 305135

Storage Conditions

Na dlhodobé uchovávanie umiestnite injekčné liekovky do kvapalnej fázy dusíka v pare pri teplote približne -150 až -196 °C. Skladovanie pri teplote -80 °C je prijateľné len ako krátky prechodný krok pred presunom do tekutého dusíka.

Kontrola kvality a molekulárna analýza

Sterility

Kontaminácia mykoplazmami sa vylučuje pomocou testov založených na PCR a metód detekcie mykoplazmiem založených na luminiscencii.

Aby sa zabezpečilo, že nedošlo ku kontaminácii baktériami, hubami alebo kvasinkami, bunkové kultúry sa denne vizuálne kontrolujú.